

Zur Frage der Sterilität der Insekten

Inauguraldissertation
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Werner Fekl

aus Nürnberg

Berlin-Göttingen-Heidelberg

Springer Verlag

1956

~~1956 №73~~
1954 №189

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Juli 1954

Dekan: Universitätsprofessor Dr. O. Dann

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. H. J. Stammer

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. M. Knorr

Sonderdruck aus: Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere
44. Band, Heft 6

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Erlangen

DIE BAKTERIENTFLORA DER TRACHEEN UND DES BLUTES
EINIGER INSEKTEN*

Von

WERNER FEKL

(Eingegangen am 27. Oktober 1954)

* Herrn Professor Dr. PAUL BUCHNER in Verehrung gewidmet.



Inhaltsübersicht	Seite
A. Einführung	442
B. Methodik.	444
C. Eigene bakteriologische Untersuchungen	445
I. Hämolymphe und Tracheen	445
II. Abhängigkeit der Tracheenflora vom Biotop	450
III. Beziehungen der Hämolympphen zur Tracheenflora.	451
IV. Versuche über tracheale Infektionen	452
D. Diskussion der Ergebnisse	453
Zusammenfassung	456
Literatur	457

A. Einführung

Obwohl bakteriologische Untersuchungen an Insekten nahezu so alt sind wie die Bakteriologie selbst — schon PASTEUR unternahm solche an Seidenraupen, und ihm folgten um die Jahrhundertwende METSCHNIKOFF und PAILOT — haben wir hier doch ein relativ unberührtes Gebiet biologischer Forschung vor uns. Dies ist um so erstaunlicher, als Bakterien bei Insekten als Trägern und Wirten in der medizinischen Entomologie, der Insekten- und Pflanzenpathologie, ja sogar in der Schädlingsbekämpfung keine unbedeutende Rolle spielen.

Die mikrobiologischen Vorgänge im Insektenkörper sind noch ziemlich unerforscht. Erst die Studien BUCHNERS und seiner Schule über die Bakteriensymbiosen zahlreicher Insekten brachten die Bakterien wieder in den Mittelpunkt des biologischen Interesses. Während die morphologische Seite des Symbioseproblems dank der intensiven Arbeit jenes Kreises nahezu erschöpfend dargestellt ist, kam man der Lösung physiologischer Fragen erst jüngst durch die Untersuchungen ASCHNERS, GLASERS, der KOCHSchen Schule u. a. näher.

Noch immer aber stößt die Reinkultur symbiontischer Mikroben — insbesondere intracellulär lebender — auf große Schwierigkeiten. Solche fehlen bei den Bakterien, welche mit den Insekten kommensalistisch leben.

Da wir nun nach STAMMER u. a. annehmen können, daß sich die Symbiose aus dem Kommensalismus entwickelte, kann die Erforschung der ersteren durch das Studium solcher Kommensalen wohl manche Anregung erhalten.

Über die Bakteriologie der Hämolymphe ist relativ wenig bekannt. Es wurden bisher etwa 250 verschiedene Bakterien identifiziert, die mit Insekten assoziiert vorkommen. Die intracellulären Symbionten sind hierbei nicht mitgezählt. Der größte Teil der Keime stammt aus dem Verdauungskanal, doch wurden von verschiedenen Forschern Bakterien auch aus dem Blute sowohl erkrankter, als auch völlig gesunder Insekten isoliert.

1931 beobachtete LILLY, daß das Blut von *Musca domestica* selbst unter völlig normalen Bedingungen eine oder mehrere Bakterien-species enthalten kann. Er vermutete, daß diese Hämolympphenflora qualitativ und quantitativ mit dem Alter, der Ernährung und der Umgebung wechselt.

TAUBER und GRIFFITH züchteten 1942 *Staphylococcus albus* aus der Hämolymphe von *Blatta orientalis* und HERMS fand den gleichen Keim im Blute von *Phyllodromia germanica*. Dieser Befund ist zum Teil verständlich, da nach METALNIKOV (1927) *Staphylococcus albus* für Insekten apathogen sein soll. Im Blute normaler Larven fand CAMERON häufig Bakterien, und zwar bei *Graphiphora triangulum*, *Gonepteryx rhamni*, *Smerinthus ocellatus*, *Endromis versicolora*, *Graphiphora agathina*, *Ennomos autumnaria*, *Agrotis ashworthi*, *Euchloris vernaria* und *Aproophyta nigra*. 1934 isolierte der gleiche Autor mehrere extrem virulente Stämme von *Bacillus subtilis* aus dem Blute und dem Verdauungskanal der Wachsmotte. Die künstlich infizierten Larven starben innerhalb 12—24 Std. Andere Stämme hingegen erwiesen sich sogar in sehr hohen Dosen als apathogen. Die Larven überstanden die Infektion und zeigten noch lange Zeit Sporen in den Körperhöhlen. Auch *Streptococcus galleriae* züchtete CAMERON aus dem Blute und dem Verdauungskanal der Wachsmottenlarven. Dieser Keim erwies sich ebenfalls als apathogen.

Über das Vorkommen von Bakterien im Blute erkrankter Insekten liegen mehrere Arbeiten vor, welche zum Teil — wie bereits erwähnt — auf die Zeiten PASTEURS zurückgehen.

Zum Beispiel fanden BENEDEK und SPECHT 1933 in der Hämolymphe von erkrankten Lecaniden *Bacillus megatherium* neben einem Pilz. GIARD und BILLET, INMAN, ISSATSCHENKO, HENNEBERG u. v. a. beschrieben pathogenes Leuchten von Insekten durch Infektion mit Leuchtbakterien (Literatur s. bei PFEIFFER und STAMMER). Hervorzuheben sind hier besonders die Studien PFEIFFER und STAMMERS über *Bacterium haemophosphoreum*. Sie konnten durch künstliche Infektion Septikämien erzeugen und interessante Untersuchungen über das Infektionsgeschehen anstellen, welche sowohl das Verhalten der Bakterien, als auch die Abwehrreaktionen des Insektenorganismus betrafen. BABERS berichtete von Septikämien, welche durch *Bacillus cereus* bei *Prodonia cridania* CRAM., *Periplaneta americana* und *Plodia interpunctella* hervorgerufen wurden. Der gleiche Keim wurde aber auch von anscheinend völlig gesunden Insekten isoliert (weitere Angaben bei STEINHAUS).

Arbeiten über die Bakteriologie des Tracheensystems liegen im Schrifttum nicht vor. Vom Atmungsstrakt der höheren Tiere ist bekannt,

daß er auch unter normalen Umständen Keime beherbergt, die durch besondere Verhältnisse größere Bedeutung erlangen können.

Da ein mögliches Vorkommen von Mikroorganismen im Tracheensystem und im Blute für viele Forschungsgebiete, wie die Zucht von Symbionten aus Insektenorganen und überhaupt für die Entstehung mancher Symbiosen, von großer Bedeutung ist, erschien es notwendig, bakteriologische Untersuchungen am Tracheensystem und der Hämolymphe verschiedener Insekten vorzunehmen.

B. Methodik

1. *Sterile Präparation.* Wohl das schwierigste Problem bei bakteriologischen Arbeiten mit Insekten stellt die sterile Präparation dar. Einerseits bereitet die Wahrung der Sterilität schon bei Arbeiten mit größeren Objekten oft Schwierigkeiten; während andererseits die Präparation von Insekten, wegen der Kleinheit des Operationsgebietes, zuweilen nicht ganz einfach ist. Ein Teil der bisherigen bakteriologischen Untersuchungen an Insekten scheint in dieser Hinsicht etwas fragwürdig zu sein.

Um eine sterile Entnahme von Tracheen und Hämolymphe bei den eigenen Versuchen zu gewährleisten, war es zunächst notwendig, verschiedene gebräuchliche Praktiken der äußeren Desinfektion und der aseptischen Präparation im Keimträgerversuch mittels Gips-Kieselgurkügelchen, die mit verschiedenen Kulturen beschmiert waren, zu prüfen. Dabei waren die meisten Methoden sehr unzuverlässig. Auch wenn Tiere mehrmals in Alkohol getaucht und abgebrannt wurden, zeigte stets ein Teil der bakteriologischen Kontrollen positive Resultate. Längeres Einlegen der Tiere in Desinfektionsmittel, wie Sublimatalkohol, Hydroperoxyd, alkoholische Chloraminlösung und dergleichen war schon deswegen durchaus ungeeignet, weil die Desinfektionsmittel in die Tracheen diffundierten und dort vorhandene Keime natürlich schädigten oder vernichteten. Außerdem bestand bei der Länge der Zeit die Gefahr, daß eine Infektion der Hämolymphe durch Darmkeime eintrat.

Es erwies sich als sehr zweckmäßig, das gereinigte und an der Oberfläche mit Jodtinktur behandelte Tier in geschmolzenes, heißes Paraffin zu tauchen¹. Durch die genannte Prozedur wurden die meisten Oberflächenkeime abgetötet und selbst sehr resistente Sporen (welche wohl auch einer anderen Behandlung widerstanden hätten) wurden zumindest fixiert und so vom Operationsfeld ferngehalten. Die Keime der inneren Organe, einschließlich Tracheensystem und Hämolymphe, schienen bei nicht allzulanger Tauchzeit keine wesentliche Schädigung zu erfahren.

Nach Tötung der Tiere mit Äther, gründlicher Reinigung und Desinfektion wurden sie unter sterilen Kautelen präpariert. Zuerst wurden Hämolympheproben, dann Tracheenstücke entnommen und abgeimpft. Bei der Entnahme von Hämolymphe war darauf zu achten, daß Verletzungen der Tracheen weitgehend vermieden wurden. Um die Tracheen von anhaftender Hämolymphe zu reinigen, wurden sie durch einige Bäder mit sterilem Wasser geführt. Wir präparierten bei *Gryllotalpa* das Abdomen ventral, bei *Dytiscus* und *Melolontha* dorsal. Bei *Apis* wurden die besonders stark entwickelten Tracheen des vorderen Thorax, welche in das erste Stigmenpaar münden, präpariert. Lymphe entnahmen wir hier nach entsprechender Präparation aus dem Abdomen.

¹ Herrn Oberarzt Dr. KELLNER vom Hygienischen Institut der Stadt Nürnberg danke ich für die Anregung zu diesem Verfahren.

2. *Verwendete Nährböden.* Von den üblichen Nährböden wurden folgende verwendet: Blutplatte, Agarplatte, Löfflerplatte, Endoplatte, Gelatineplatte, Kartoffelschnitte, Neutralrotagar, Stichagar, Hochagar, Stichgelatine. Ferner wurden Kulturen angelegt, in Nährbrühe, Tryptophanbrühe, Nitratbrühe, Peptonwasser und Milch. Meistens wurde eine bunte Reihe mit folgenden Substanzen angelegt: Glucose, Lactose, Saccarose, Salicin, Maltose, Dulcitol, Mannit, Xylose. Speziellere Böden waren nur in einigen Fällen notwendig. Soweit möglich, kamen BRAMSCHE Trockennährböden zur Verwendung, die sich durch konstante Zusammensetzung auszeichnen. Es erwies sich als günstig, besonders den Anzuchtnährböden Insektendekokt zuzusetzen. Bei der Bereitung von Nährböden wurde ebenso wie bei der Durchführung diagnostischer Färbung und der Beurteilung von Stoffwechsel, Wachstum und Färbbarkeit entsprechend den Vorschlägen des „Ausschusses für bakteriologische Untersuchungstechnik“ der amerikanischen Bakteriologen vorgegangen.

3. *Kultur der Bakterien.* Die mit Tracheen oder Hämolymphe beimpften Platten wurden teils im 37°-Thermostat, teils bei Zimmertemperatur bebrütet, bis sich makroskopisch deutlich sichtbares Wachstum zeigte. Erschienen die Kolonien unter dem Plattenmikroskop einheitlich, so wurde ein Abstrich nach GRAM gefärbt. Lag auch mikroskopisch ein einheitliches Bild vor, so wurde auf frische Platten oder Schrägagarröhrchen abgeimpft. Mischkulturen wurden entweder durch Ausstriche auf Platten oder durch modifiziertes KOCHSches Ausgußverfahren getrennt.

4. *Die Bestimmung der Reinkulturen.* Die Reinkulturen wurden nach „BERGEYS Manual“ und der „Bakteriologischen Diagnostik“ von LEHMANN-NEUMANN bestimmt. Soweit möglich, hielten wir uns an das modernere amerikanische Werk. Oft aber konnte man — besonders in bezug auf die stoffwechselphysiologischen Eigenschaften der gezüchteten Stämme — dem allzustarren Schema BERGEYS nicht folgen. Es zeigten sich oft zahlreiche Varianten und daher mußten bei der Bestimmung zuweilen die morphologischen Eigenschaften in erster Linie verwertet werden, wie sie auch LEHMANN-NEUMANN bevorzugten.

C. Eigene bakteriologische Untersuchungen

I. Hämolymphe und Tracheen

1. *Gryllotalpa.* Mit der angegebenen Technik wurden 100 Tiere untersucht. In den Tracheen von 40 Gryllotalpen ließen sich kulturell

Tabelle 1

Tierart	Zahl der untersuchten Tiere	Tiere mit negativem Befund in Trachee und Lymphe	Tiere mit positivem Befund in Trachee- und Lymphe- befund	Tiere mit positivem Befund in Trachee- und Lymphe- befund	Tiere mit positivem Lymph- und negativem Trachee- befund	Zahl der isolierten Kulturen	Zahl der verschiedenen Keime
<i>Gryllotalpa vulg.</i>	100	19	80	13	1	104	17
<i>Delonotha mel.</i> (1. Serie) . .	50	5	45	4	0	50	9
<i>Delonotha mel.</i> (2. Serie) . .	40	7	32	6	1	65	11
<i>Pyttiscus marginalis</i>	8	1	7	2	0	12	6
<i>Apis mellifica</i> (gesund)	100	16	83	4	1	108	15
<i>Apis mellifica</i> (m. <i>Acarapis</i>) .	100	17	83	16	0	113	17
<i>Apis mellifica</i> (fluglahm) . .	50	7	43	3	0	53	12
Gesamte Summe	448	72	373	48	3	505	36

Bakterien nachweisen. Bei 13 dieser Tiere war auch ein positiver Befund in der Hämolymphe zu verzeichnen. Bei einem einzigen Tier zeigte sich bei negativem Tracheenbefund ein positiver Befund in der Hämolymphe (s. Tabelle 1 und 2).

Tabelle 2

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt	Ober- fläche
<i>Actinomyces</i>	7×	+	2×	+	9×	+
<i>Bacillus cereus</i>	2×	++	—	—	2×	—
<i>Bacillus megatherium</i>	6×	+	—	—	6×	+
<i>Bacillus mesentericus</i>	7×	+	—	—	7×	+
<i>Bacillus mycoides</i>	10×	+++	3×	+	13×	+
<i>Bacillus subtilis</i>	15×	++	5×	+ o. ++	20×	+
<i>Bacillus vulgatus</i>	4×	++	—	—	4×	—
<i>Corynebacterium helvolum</i>	7×	++	1×	+	8×	—
<i>Corynebacterium tumescens</i>	2×	++	—	—	2×	—
<i>Escherichia coli</i>	4×	++	—	—	4×	+
<i>Micrococcus candidans</i>	7×	+++	2×	+ o. ++	9×	+
<i>Micrococcus flavus</i>	2×	+	—	—	2×	—
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>albus</i>	6×	++	2×	+	8×	+
<i>Micrococcus varians</i>	5×	++ o. +++	2×	+ o. ++	7×	+
<i>Proteus vulgaris</i>	2×	++	—	—	2×	—
<i>Sarcina alba</i>	5×	++	—	—	5×	+
<i>Sarcina lutea</i>	1×	++	—	—	1×	—
Summe	92×		17×		109×	

+— = sehr wenig, + = wenig, ++ = mittel, +++ = zahlreich.

Die Angaben „mittel“, „zahlreich“ usw. als Maß der Stärke des Bakterienbefalls sind natürlich sehr relativ. Genaue quantitative Angaben sind hier kaum zu erhalten. Da stets mehrere Tracheenstücke bzw. Hämolympfenproben ausgestrichen wurden, errechnete ich den Durchschnittswert für einen Ausstrich und wertete folgendermaßen: 0—1 Kolonien = sehr wenig, 1—2 Kolonien = wenig, 2—5 Kolonien = mittel, 5 Kolonien und mehr = zahlreich.

In mit Bakterienfarbstoffen behandelten Tracheen gelang es, einzeln Stäbchen, Coccen und Sporen darzustellen. Der Befall war stets sehr schwach (die kulturellen Angaben wie „mittel“ oder „zahlreich“ sind, wie gesagt, nur relativ zu bewerten). Es dürften ja überhaupt die chitinierten Tracheen äußerst ungünstige Medien für hereingelante Keime darstellen, so daß hier wohl meist Ruhestadien (z. B. Sporen) vorherrschen.

Erwartungsgemäß zeigte sich auch, wenn die vorderen starken und die hinteren feinen Abschnitte der Tracheen getrennt untersucht wurden,

daß die starken Tracheenäste bedeutend bakterienreicher sind, als die feinen Verzweigungen.

2. *Melolontha melolontha*. Es wurden 2 Fänge von Tieren, welche von verschiedenen Orten stammten (Serie 1 in der Nähe von Stuttgart, Serie 2 bei Heidelberg gesammelt) untersucht.

a) Bei 50 geprüften Tieren zeigte sich 45mal ein positiver Befund der abgeimpften Tracheen und bei den gleichen 45 Tieren 4mal ein Keimgehalt des Blutes (Tabelle 1 und 3).

Tabelle 3

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt
<i>Bacillus mesentericus</i>	6×	+	1×	+	7×
<i>Bacillus mycoides</i>	3×	— o. +	—	—	3×
<i>Bacillus subtilis</i>	7×	+ o. ++	2×	+	9×
<i>Corynebacterium simplex</i> . . .	3×	+	—	—	3×
<i>Flavobacterium diffusum</i> . . .	5×	+	—	—	5×
<i>Micrococcus flavus</i>	8×	+	—	—	8×
<i>Micrococcus pyogenes var. albus</i>	3×	++	—	—	3×
<i>Proteus vulgaris</i>	6×	— o. +	—	—	6×
<i>Sarcina lutea</i>	5×	+	1×	++	6×
Summe	46×		4×		50×

b) Von dieser Serie wurden 40 Tiere geprüft. 32mal ließen sich Bakterien aus Tracheen züchten. Bei 6 Tieren zeigten sich Keime in Tracheen und Hämolymphe zugleich, während 1mal nur die Hämolymphenkultur anging (Tabelle 1 und 4).

Tabelle 4

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt
<i>Bacillus cereus</i>	12×	+ bis +++	3×	+ o. ++	15×
<i>Bacillus megatherium</i>	1×	+++	—	—	1×
<i>Bacillus mesentericus</i>	6×	++	—	—	6×
<i>Bacillus subtilis</i>	3×	+	1×	+	4×
<i>Chromobacterium ianthinum</i> . .	2×	+	—	—	2×
<i>Escherichia coli</i>	5×	+	—	—	5×
<i>Flavobacterium rhenanus</i> . . .	2×	— o. +	—	—	2×
<i>Micrococcus flavus</i>	9×	++	—	—	9×
<i>Micrococcus pyogenes var. albus</i>	7×	++ o. +++	2×	++	9×
<i>Pseudomonas mildenbergii</i> . .	1×	+	—	—	1×
<i>Sarcina alba</i>	11×	+ bis +++	—	—	11×
Summe	59×		6×		65×

3. *Dytiscus marginalis*. Hier wurden 8 Exemplare untersucht. Bei 2 Tieren zeigten sich Keime in Tracheen und Hämolymphe, während die weiteren 5 Tiere nur positiven Tracheenbefund zeigten (Tabelle 1 und 5).

Tabelle 5

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt
<i>Bacillus mesentericus</i>	1×	++	—	—	1×
<i>Chromobacterium violaceum</i> . .	2×	++	—	—	2×
<i>Micrococcus candidans</i>	3×	+	—	—	3×
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i>	2×	+++	2×	+	4×
<i>Micrococcus varians</i>	1×	+	—	—	1×
<i>Vibrio liquefaciens</i>	1×	+	—	—	1×
Summe	10×		2×		12×

4. *Apis mellifica*. Hier wurden 3 Gruppen untersucht.

a) *Gesunde Bienen*. Wir prüften 100 Tiere und fanden bei 83 davon in den untersuchten Tracheen Keime und wiederum bei 4 davon zugleich Bakterien in der Hämolymphe. 1 Tier zeigte bei positivem Lymphfnd einen negativen Befund der abgeimpften Tracheen (Tabelle 1 und 6).

Tabelle 6

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt	Um- gebung
<i>Actinomyces</i>	6×	+	—	—	6×	+
<i>Bacillus alvei</i>	1×	+	—	—	1×	+
<i>Bacillus mesentericus</i>	8×	++	—	—	8×	+
<i>Bacillus mycoides</i>	9×	++	2×	+	11×	+
<i>Bacillus subtilis</i>	13×	+	2×	+—	15×	+
<i>Bacterium prodigiosum</i>	2×	+	—	—	2×	+
<i>Micrococcus luteus</i>	16×	+	1×	—	17×	+
<i>Micrococcus luteus</i>	8×	++	1×	+	9×	+
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>albus</i>	4×	+	1×	+	5×	+
<i>Micrococcus radiatus</i>	2×	+	—	—	2×	—
<i>Proteus mirabilis</i>	5×	+	—	—	5×	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3×	+—	—	—	3×	+
<i>Sarcina aurantiaca</i>	10×	+	—	—	10×	+
<i>Sarcina flava</i>	5×	+	—	—	5×	+
<i>Sarcina lutea</i>	9×	+	—	—	9×	+
Summe	101×		7×		108×	

Bei orientierenden Untersuchungen über die Keime der Bienenoberfläche ergab sich der schon von WHITE erhobene Befund, daß eine relative Keimarmut und eine ziemliche Eintönigkeit der Oberflächenflora zu beobachten ist. WHITE fand nur 3 Species (*Bacillus A*, *Bacillus cyaneus* und *Micrococcus C*) auf gesunden erwachsenen Bienen normaler Stöcke. Diese anscheinende Keimarmut ist sehr erstaunlich, da doch der Körper der Biene geradezu prädestiniert ist, Fremdkörper (z. B. Pollen) zu tragen. Es bedürfte noch weiterer Untersuchungen, ob nicht Beziehungen zu den von DOLD festgestellten Bakterieninhibitoren des Bienenhonigs bestehen. Die Oberflächenflora der Biene wurde nicht

weiter analysiert. Das von WHITE festgestellte *Bacterium cyaneum* fanden wir jedoch nicht.

b) *Milbenkranke Bienen*. Bei 100 untersuchten Tieren ergab die kulturelle Untersuchung 83mal Bakterien in den Tracheen und 16mal Bakterien in der Hämolymphe (Tabelle 1 und 7).

Tabelle 7

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt	Um- gebung
<i>Actinomyces</i>	2×	+	1×	+	3×	+
<i>Aerobacter cloacae</i>	5×	++	—	—	5×	—
<i>Bacillus alvei</i>	8×	+ o. ++	2×	+	10×	+
<i>Bacillus mesentericus</i>	5×	+	—	+	5×	+
<i>Bacillus mycoides</i>	11×	+++	4×	++	15×	+
<i>Bacillus subtilis</i>	9×	++ o. +++	4×	+	13×	+
<i>Bacterium prodigiosum</i>	4×	++	1×	++	5×	+
<i>Escherichia coli</i>	2×	++ o. +++	1×	+	3×	—
<i>Micrococcus flavus</i>	10×	+	2×	+	12×	+
<i>Micrococcus luteus</i>	2×	+	—	—	2×	+
<i>Proteus mirabilis</i>	2×	++	—	—	2×	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4×	++ o. +++	1×	++	5×	+
<i>Sarcina aurantiaca</i>	5×	+	1×	+	6×	+
<i>Sarcina flava</i>	5×	+	2×	+	7×	+
<i>Sarcina lutea</i>	2×	+	—	—	2×	+
<i>Streptococcus faecalis</i>	9×	++	3×	++	12×	+
<i>Streptococcus liquefaciens</i>	4×	+ o. ++	2×	+	6×	+
Summe	89×		24×		113×	

c) *Fluglahme Bienen ohne Milben*. Hier wurden die Ergebnisse von 50 Tieren verwertet, welche aus befallenen Stöcken stammten und auch fluglahm waren, bei denen jedoch keine Milben in den Tracheen beobachtet wurden. 43mal ergab sich ein positiver bakteriologischer Befund in den Tracheen, wobei 3 dieser Tiere auch in der Hämolymphe Keime zeigten (Tabelle 1 und 8).

Tabelle 8

Keim	Trachee		Lymphe		Ins- gesamt	Um- gebung
<i>Actinomyces</i>	3×	+	—	—	3×	+
<i>Bacillus alvei</i>	1×	+	—	—	1×	—
<i>Bacillus mesentericus</i>	5×	++	—	—	5×	+
<i>Bacillus mycoides</i>	7×	++	2×	+	9×	+
<i>Bacillus subtilis</i>	6×	++	—	—	6×	+
<i>Bacterium prodigiosum</i>	3×	+	1×	—	4×	—
<i>Micrococcus luteus</i>	4×	++	—	—	4×	+
<i>Micrococcus pyogenes var. albus</i>	5×	++	2×	+	7×	+
<i>Proteus mirabilis</i>	1×	+	—	—	1×	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4×	+	1×	+	5×	+
<i>Sarcina flava</i>	5×	+	—	—	5×	+
<i>Streptococcus liquefaciens</i>	2×	— o. +	1×	+	3×	—
Summe	46×		7×		53×	

Es wurden bei den 448 untersuchten Insekten folgende 36 verschiedene Keime isoliert und bestimmt:

<i>Actinomyces</i> (G, A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Micrococcus candicans</i> (G, D)
<i>Aerobacter cloacae</i> (A ₂)	<i>Micrococcus flavus</i> (G, M ₁ , M ₂ , A ₁ , A ₂)
<i>Bacillus alvei</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Micrococcus luteus</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)
<i>Bacillus cereus</i> (G, M ₂)	<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>albus</i> (G, M ₁ , M ₂ , A ₁ , A ₃)
<i>Bacillus megatherium</i> (G, M ₂)	<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i> (D)
<i>Bacillus mesentericus</i> (G, M ₁ , M ₂ , D, A ₂ , A ₃)	<i>Micrococcus radiatus</i> (A ₁)
<i>Bacillus mycoides</i> (G, M ₁ , A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Micrococcus varians</i> (G, D)
<i>Bacillus subtilis</i> (G, M ₁ , M ₂ , A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Proteus mirabilis</i> (G, A ₁ , A ₂ , A ₃)
<i>Bacillus vulgatus</i> (G)	<i>Proteus vulgaris</i> (G, M ₁)
<i>Bacterium prodigiosum</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)
<i>Chromobacterium ianthinum</i> (M ₂)	<i>Pseudomonas mildembergii</i> (M ₂)
<i>Chromobacterium violaceum</i> (D)	<i>Sarcina alba</i> (G, M ₂)
<i>Corynebacterium helvolum</i> (G)	<i>Sarcina aurantiaca</i> (A ₁ , A ₂)
<i>Corynebacterium simplex</i> (M ₁)	<i>Sarcina flava</i> (A ₁ , A ₂ , A ₃)
<i>Corynebacterium tumescens</i> (G)	<i>Sarcina lutea</i> (G, M ₁ , A ₁ , A ₂)
<i>Escherichia coli</i> (G, M ₂ , A ₂)	<i>Streptococcus faecalis</i> (A ₂)
<i>Flavobacterium diffusum</i> (M ₁)	<i>Streptococcus liquefaciens</i> (A ₂ , A ₃)
<i>Flavobacterium rhenanus</i> (M ₂)	<i>Vibrio liquefaciens</i> (D)

Die Buchstaben in den Klammern geben an, in welchen Tieren die Keime gefunden wurden. Die Abkürzungen bedeuten folgendes.

G = gefunden bei <i>Gryllotalpa</i>	A ₁ = gefunden bei gesunden Bienen
M ₁ = gefunden bei <i>Melolontha</i> der 1. Serie	A ₂ = gefunden bei milbenkranken Bienen
M ₂ = gefunden bei <i>Melolontha</i> der 2. Serie	
D = gefunden bei <i>Dytiscus marginalis</i>	A ₃ = gefunden bei fluglahmen Bienen ohne Tracheenmilben

II. Abhängigkeit der Tracheenflora vom Biotop

Es war anzunehmen, daß man, entsprechend dem Biotop von *Gryllotalpa* mit typischen Erdkeimen rechnen mußte. Es erschien auch seltsam, wenn das Atmungssystem eines Tieres, welches sich ständig in keimreicher Erde bewegt, steril sein sollte. Sind doch die Tracheen als eine nach innen verlagerte Außenwelt aufzufassen. Die Tracheenflora wechselte bei den verschiedenen Fängen qualitativ und quantitativ. Irgendeine Konstanz war nicht festzustellen und es mag sich bei erneuten Untersuchungen eine völlig andere Zusammensetzung ergeben.

Ein großer Teil der untersuchten Tiere stammte aus gut gedüngten Beeten des Botanischen Gartens (Erlangen). Um den Keimgehalt des entsprechenden Lebensraumes zu prüfen, wurden Erdproben aus etwa 10—15 cm Tiefe entnommen und mittels Verdünnungs- und Platten-gußverfahren die Keimzahl festgestellt. Sie betrug ungefähr 250 Millionen je Gramm Erde. Dabei muß beachtet werden, daß ein solches Verfahren nur einen Teil der Erdkeime erfaßt.

Im einzelnen wurden nachgewiesen: *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mesentericus*, *Bacterium prodigiosum*, ver-

schiedene weiße und gefärbte Micrococcen und Sarcinen sowie Actinomyceten. Etwa die gleichen Keime wurden erhalten, wenn ungereinigte Tiere über den Nährboden gestrichen wurden (Tabelle 2, Spalte Oberfläche).

Um den Unterschied zu den Keimen der Laborluft zu prüfen, wurden im Arbeitsraum Luftplatten aufgestellt. Hier fanden sich besonders weiße und gefärbte Micrococcen, Sarcinen (vor allem *Sarcina flava*), 2mal *Micrococcus pyog. var. albus*, 1mal *Bacillus mesentericus*, sowie ein farblos wachsendes Stäbchen. Die meisten dieser Keime waren in der Erde nicht oder in geringem Maße gefunden worden.

Die Buntheit der Tracheenflora entspricht also derjenigen der Erdflora. Praktisch alle isolierten Mikroorganismen stellten typische, meist ubiquitäre Erd- und Luftkeime dar.

Die bei *Gryllotalpa* erhobenen Befunde entsprechen durchwegs den bei andern Insekten gewonnenen. Stets ließen sich aus den Tracheen die verschiedensten Bakterien und bei einzelnen Tieren auch Keime aus der Hämolymphe züchten. Eine besondere Konstanz in der Zusammensetzung der Tracheen- oder Hämolympphenflora fand sich nicht. Je nach dem Lebensraum war eine andere Zusammensetzung zu finden. Dies zeigten besonders deutlich die beiden Serien von *Melolontha*, die von verschiedenen Orten stammten.

Auch die Befunde bei den gesunden Bienen entsprachen durchaus den oben angeführten.

III. Beziehungen der Hämolymphe- zur Tracheenflora

Wie bereits erwähnt, sind von mehreren Autoren (CAMERON, LILLY PAILLOT usw.) Bakterien aus der Hämolymphe anscheinend völlig gesunder Insekten gezüchtet worden. Die Herkunft dieser Mikroorganismen und die Gründe für eine solche Toleranz der Insekten sind jedoch völlig offene Fragen.

Auffallend ist bei unseren Untersuchungen, daß sich im Blut nur Bakterien fanden, die auch in den Tracheen nachgewiesen wurden. Eine Verunreinigung der Hämolymphe mit Tracheenkeimen ist durch die angewandte Präparationstechnik vermieden worden. Eine vom Darm ausgehende Infektion darf ausgeschlossen werden, da die meisten der Blutbakterien weder von KELLER noch von uns im Grillendarm gefunden werden konnten. Einige Bakterienspecies (z. B. *Bacillus subtilis*) fanden sich zwar sowohl im Darm, als auch in der Hämolymphe, doch war es leicht möglich, die vom Darm stammenden Keime von denen der Hämolymphe zu differenzieren. Eine Aufklärung über den Zusammenhang zwischen Hämolymphe- und Tracheenflora scheint aus den Befunden, die wir an milbenkranken Bienen gewonnen haben, möglich zu sein.

Bei gesunden Bienen sind Hämolympphenkeime nach unseren Beobachtungen ziemlich selten. Um so auffallender waren die Ergebnisse bei milbenbefallenen.

Die Bienenmilbe (*Acarapis woodi*) hat bekanntlich ihren Sitz in den besonders stark entwickelten Tracheen des vorderen Thorax, welche in das 1. Stigmenpaar münden. Die Milbe ernährt sich vom Bienenblut, das sie nach Durchstechen der Tracheenwand aufsaugt. Bei der Verletzung der Trachee dringt Blut in die Tracheen ein, gerinnt und bildet zusammen mit dem Milbenkot oft einen ausgedehnten Schorf. Es erschien durchaus wahrscheinlich, daß sich daraus auch bakteriologische Folgerungen ergeben.

Vergleicht man unsere Befunde bei gesunden Bienen mit denen bei milbenkranken, so zeigt sich, daß der Befall der Tracheen bei letzteren stets bedeutend stärker war. Auch die qualitative Zusammensetzung der Tracheenflora verschiebt sich bei Milbenbefall. Dabei treten vorwiegend Eiweißverwerter bzw. Fäulnisbakterien (zum Teil reine Fäkalbakterien), ja sogar teilweise stark bienenpathogene Keime in den Vordergrund.

Noch auffallender sind die Resultate bei der Hämolymphe. Die Zahl der Tiere mit bakterienhaltiger Hämolymphe übersteigt bei Milbenbefall das Dreifache des Wertes der gesunden Bienen. Die Zusammensetzung der Hämolympphenflora verschob sich dabei im gleichen Sinne wie die der Tracheenflora, so daß der Zusammenhang zwischen beiden hier besonders auffallend ist. Gerade bei den milbenkranken Bienen macht aber die Vorstellung eines Zusammenhanges zwischen den Bakterien der befallenen Tracheen und der Hämolymphe keine Schwierigkeiten. Ebenso ist es verständlich, daß der Befall der Tracheen mit Milben, besonders aber die Schorfbildung zu einer qualitativen und quantitativen Veränderung der Bakterienflora führt.

IV. Versuche über tracheale Infektionen

Es sollte nun auch experimentell die Infektion der Tracheen von der Umgebung her gezeigt werden. Dazu wurden Tiere in Behälter gesetzt, die mit *Bacillus megatherium* und *Staphylococcus albus* (*Micrococcus pyogenes* var. *albus*) verunreinigt waren. Zum Teil beschmierten wir auch unter Vermeidung der Stigmen die Oberfläche der Tiere mit den Keimen, die mit Hilfe von Elektivböden leicht isoliert werden konnten. Nachdem die Tiere mehrere Tage in den Gefäßen verweilten, wurden sie in bekannter Weise präpariert, und es wurden Proben der Tracheen und der Hämolymphe in Bouillon gegeben. Nach kurzer Bebrütung wurde die eine Hälfte der Nährlösung mit verflüssigtem Nähragar, der 10% Kochsalz enthielt (*Staphylococcus albus*-Elektivboden) vermischt und zu Platten gegossen.

Die andere Hälfte wurde im Dampftopf erhitzt und zusammen mit Nähragar, der 50% Dextrose enthielt (*Bacillus megatherium*-Elektivboden) zu Platten ausgegossen.

Zuerst wurden 12 Gryllotalpen in dieser Weise getestet. Die Tiere waren 3 Tage in den intizierten Behältern gewesen. Das Ergebnis ist aus Tabelle 9 zu ersehen.

Der Versuch wurde an 20 gesunden Bienen, welche 5 Tage in den infizierten Behältern waren, wiederholt (s. Tabelle 10).

Bei 20 milbenkranken Bienen kam es zu den aus Tabelle 11 zu ersiehenden Resultaten.

Damit war deutlich gezeigt, daß die Keime der Umgebung Zutritt zu den Tracheen haben und daß auch die Möglichkeit einer Infektion der Hämolymphe über die Tracheen besteht.

Tabelle 9

Zahl der Tiere	Tracheen		Lympe	
	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen
3	0	0	0	0
2	+	+	0	+
1	+	+	+	0
5	+	+	0	0
1	0	+	0	0
Bei 12 Tieren	8×	9×	1×	2×

Tabelle 10

Tabelle 11

Zahl der Tiere	Tracheen		Lympe	
	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen
6	0	0	0	0
2	+	+	0	+
1	0	+	0	+
8	+	+	0	0
1	+	0	0	0
2	0	+	0	0
Bei 20 Tieren	11×	13×	0×	2×

Zahl der Tiere	Tracheen		Lympe	
	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen	Sta-phylo-kokken	Ba-zillen
3	0	0	0	0
6	+	+	+	+
8	+	+	0	0
3	0	+	0	0
Bei 20 Tieren	14×	17×	6×	6×

D. Diskussion der Ergebnisse

Es darf nicht verwundern, daß bei unseren Untersuchungen Pilze nicht in Erscheinung treten. Zum Beispiel durfte bei der fast neutralen Reaktion des Gartenbodens bekanntlich die Bakterienflora weitaus überwiegen. Zudem verwendeten wir reine Bakteriennährböden mit alkalischer Reaktion, während Pilze saures Milieu bevorzugen. Auch wurde die Anzuchtplatte nur relativ kurz beobachtet (wie es für Bakterien ausreichend ist), und einzelne etwa vorgekommene Schimmelpilze konnten von Verunreinigungen nicht differenziert werden. Bei einer bakteriologischen Untersuchung des Tracheensystems durften wohl die obligaten Anaerobier von vornherein ausgeschlossen werden, was die Methodik wesentlich erleichterte. Ebenso blieben die obligat autotrophen Arten, d. h. Keime, die nur auf Nährböden ohne jeglichen organisch gebundenen Stickstoff gedeihen, völlig unbeachtet. In gleicher Weise wurde auf einen Nachweis von Virusarten, Rickettsien u. ä. verzichtet.

Actinomyceten wurden sicher weniger nachgewiesen, als ihrem quantitativen Vorkommen entspräche. Nach Ansicht mancher Autoren (LIESKE, MEYER, RIPPEL) bilden sie den Hauptbestandteil der Bodenmikroflora. Sie erscheinen jedoch, wegen ihres sehr langsamen Wachstums erst nach längerer Zeit auf den Kulturplatten. Solange beobachteten wir — wie bereits oben angedeutet — aber meistens nicht dieselbe Platte. Die isolierten Actinomyceten wuchsen anfangs grünlich, waren fest und spröde und mit dem Nährboden fest verwachsen. Sie zeigten charakteristischen Erdgeruch und starke Hämolyse. Nach einiger Zeit sahen sie matt, kreidig, bestäubt aus. Es wird sich wohl um *Actinomyces odorifer* oder einen nächst verwandten Mikroorganismus gehandelt haben.

Nach den vorliegenden Untersuchungen dürfte feststehen, daß die Tracheen der Insekten praktisch immer Keime enthalten. Sicher ist die Tracheeninfektion in Wirklichkeit stets 100%ig; die negativen Befunde entstanden wohl durch die sorgfältige Desinfektion. Der Zusammenhang mit dem Biotop ist ebenso auffallend, wie auch einleuchtend. Da der Biotop meist viele verschiedene Keime enthält, gestaltet sich auch die Tracheenflora meist bunt. Bei *Gryllotalpa* war dieser Zusammenhang sehr deutlich. Die Buntheit der Keimflora des Erdbodens ist bekannt. Er stellt ein äußerst inhomogenes Medium dar. In ihm ändern sich die Verhältnisse ständig nicht nur nach der Tiefe, sondern sogar in der gleichen Höhenschicht. Jedes Mineralbestandteilchen anderer Art schafft neue Umweltbedingungen. Jedes Insektenteilchen kann infolge Ammoniakbildung eine alkalische Mikrozone veränderter Reaktion bilden. Zellulose- oder Ligninstückchen können die Reaktion nach der sauren Seite verschieben und veränderte Ernährungsverhältnisse schaffen. In gleicher Weise können lebende Pflanzenwurzeln zu anderen Bedingungen führen (RIPPEL-BALDES). Man hat dementsprechend auch mit Mikromethoden an verschiedenen Bodenbestandteilchen verschiedene H-Ionenkonzentrationen gemessen. Bei den aus Beeten des Botanischen Gartens stammenden Tieren machte sich noch menschlicher Eingriff in Form von Düngung bemerkbar. Nach Zufuhr leicht zersetzbarer organischer Substanzen vermehren sich bekanntlich insbesondere die Eiweiß- und Kohlenhydrate abbauenden Bakterien, die man quasi als „Gelegenheitsarbeiter“ ansprechen darf (RIPPEL-BALDES). Ein typischer Vertreter dieser Gruppe ist *Bacillus mycoides*. GRUNDMANN hat seine Verbreitung im Hochgebirge untersucht, wo gedüngte und ungedüngte Böden oft in nächster Nähe nebeneinander vorkommen. In ähnlicher Weise ist auch *Bacterium coli* die Leitform von mit Fäkalien verunreinigtem Wasser, die in reinem Wasser und unverschmutztem Boden nicht gedeiht. Eine kleine Rolle mag auch die jahreszeitlich und klimatisch bedingte Schwankung des Mikroorganis-

mengehaltes des Bodens bei solchen Untersuchungen spielen. (Es geht z. B. der Mikroorganismengehalt des Bodens dem Produkt aus Temperatur und Feuchtigkeit parallel.) Ähnliche Verhältnisse finden wir im Lebensraum der weiteren untersuchten Insekten.

Schwerer verständlich scheint das schon öfters beobachtete und bei Insekten wohl gar nicht seltene Auftreten von Bakterien in der Hämolymphe. E. ZANDER meinte, daß eigentlich nur der Mund als Eintrittspforte in Betracht komme, da die Oberfläche von einer undurchdringlichen Chitinhülle überzogen ist. Das gleiche ist bei den Tracheen der Fall; daher könnten die Keime auch nicht durch die seitlichen Atemlöcher einwandern.

Auch TAUBER, der *Staphylococcus albus* als pathogenen Keim in der Hämolymphe fand, befaßte sich mit der Frage nach dem Infektionsweg, der zum Befall des Blutes mit Mikroorganismen führt. Er meint, das Insekt komme nach der Häutung, wenn das Exoskelet sehr weich und verletzbar ist, in Kontakt mit infizierten Tieren. Dabei könnten die Bakterien die feine Haut aktiv durchdringen oder durch kleine Sprünge in der Oberfläche in den Körper gelangen.

PFEIFFER und STAMMER, die durch Fütterung keine Infektion mit *Bacterium haemophosphoreum* erzeugen konnten, nahmen ebenfalls an, daß die Infektion durch eine Verletzung der Haut, des Darmes oder durch Insektenstiche erfolgt. Solche Verletzungen können aber wahrscheinlich sogar leichter bei den feinen Tracheen vorkommen, so daß man auch diese unter anderem als Infektionsquelle in Betracht ziehen muß. Daß Insektenstiche, besonders aber ein Tracheenparasitismus zu einer Infektion führen können, zeigen deutlich die Resultate der Untersuchungen an Milbenbienen.

Nachdem CAMERON, LILLY usw. und auch wir relativ oft infizierte Insekten fanden, scheint es sich bei solchen Infektionen keineswegs um Ausnahmen zu handeln. Der Insektenorganismus kommt anscheinend recht oft mit den Keimen seines Lebensraumes in engsten Kontakt, und es mag sich daraus die Resistenz dieser Tiere gegen viele Bakterien erklären. Daß sich aus einer solchen Resistenz gegen kommensalistische Keime eine Symbiose entwickeln kann, erscheint durchaus möglich. Wie sich symbiontische Keime in der Darmflora bei der natürlichen Besiedlung des Darmes durch die Keime der aufgenommenen Nahrung ausbilden, kann es auch hier zu ähnlichen Verhältnissen kommen. Im weiteren Fortschreiten der wechselseitigen Anpassung zwischen Mikro- und Makroorganismen stellt anscheinend letzterer Mycetome zur Verfügung (Näheres bei STAMMER). Weitere Untersuchungen in dieser Richtung erscheinen wünschenswert.

Der Bakteriengehalt von Tracheen und Lymphe muß natürlich bei bakteriologischen Arbeiten an Insekten, insbesondere der Zucht von

Symbionten berücksichtigt werden. Zunächst ist bei der bakteriologischen Arbeit an Insekten darauf zu achten, daß nicht nur Darm und Darmanhänge, sondern auch die Tracheen möglichst unverletzt bleiben. Will man Keime aus Organen züchten, so muß der Keimgehalt des Blutes berücksichtigt werden. Es ist jedenfalls zu empfehlen, auch Hämolympfenproben in solchen Fällen mit abzuimpfen und die Organe gründlich in sterilem Wasser zu waschen, wenn nicht sogar durch Desinfektionsbäder zu führen. Die Wahrscheinlichkeit, bei den Insekten Fremdkeime zu züchten, ist außerordentlich groß. Manche, angeblich gezüchteten Symbionten dürften nichts anderes darstellen, als auf diese Weise, selbst bei subtiler Technik, in die Kultur kommende Fremdkeime. Gerade im Hinblick auf Autoren wie H. SCHANDERL, welche in letzter Zeit aus allen möglichen tierischen und pflanzlichen Geweben sog. „Symbionten“ züchten, sind strenge Forderungen nötig. Diese haben sowohl die Versuchstechnik, als auch die Auslegung zu betreffen. Besonders ist Keimen, welche auf den allgemeinen Nährböden wachsen, Skepsis entgegenzubringen. Nach STAMMER müssen für das Vorliegen einer neuen Symbiose folgende Forderungen erfüllt sein.

Nachweis der Regelmäßigkeit des Auftretens der Symbionten in verschiedenen Entwicklungsstadien des Wirtes, Kenntnis der Morphologie und des Formenwechsels der Symbionten auf Grund mikrobiologischer Färbemethoden und Nachweis der Art der Übertragung des Symbionten auf die Nachkommen. Die Kultur als einziges Kriterium ist ein viel zu kompliziertes Problem. Denn — wie gesagt — ist es einerseits unter Umständen schwierig, Fremdkeime fernzuhalten, während andererseits sich viele Symbionten, mit den gebräuchlichen bakteriologischen Methoden nicht züchten lassen. Zum Nachweis der Identität von gezüchteten Bakterien mit den Symbionten können serologische Methoden herangezogen werden, worauf unter anderem GÜBLER und KELLER hinwiesen.

Zusammenfassung

Es wird über bakteriologische Untersuchungen am Tracheensystem und der Hämolymphe einiger Insekten, sowie über Infektionsversuche berichtet. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen.

1. Die Tracheen der Insekten enthalten Bakterien, die im allgemeinen mit denen der Umgebung übereinstimmen.

2. Eine Besiedlung mit Keimen der Umgebung läßt sich experimentell erzeugen.

3. Auch die Hämolymphe kann Bakterien enthalten, ohne daß eine Erkrankung des Insektes zu beobachten wäre.

4. Der Bakteriengehalt von Tracheen und Hämolymphe erhöht sich bei Befall der Tracheen mit parasitierenden Milben.

5. Zwischen den Bakterien der Tracheen und der Hämolymphe scheint ein Zusammenhang zu bestehen, der besonders deutlich beim Tracheenparasitismus zutage tritt, während die in der Hämolymphe gefundenen Keime meist keinen deutlichen Zusammenhang mit denen der Darmflora erkennen lassen.

6. Auf die besondere Bedeutung des Bakteriengehaltes von Tracheen und Hämolymphe für die Symbioseforschung wird abschließend hingewiesen.

Literatur

- ARMBRUSTER, L.: Zur Acarapisfrage. Arch. Bienenkde **7**, 313—327 (1926). — ASCHNER, M., u. E. RIES: Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **26**, 529—590 (1932). — BABERS, F. H.: Septicemia of the southern army worm, caused by *Bacillus cereus*. Ann. Entomol. Soc. Amer. **31**, 371—373 (1938). — BAUMGÄRTEL, TR.: Mikrobielle Symbiosen. Jena 1942. — Mikrobielle Symbiosen im Pflanzen- und Tierreich. Wissenschaft **94** (1946). — BENEDEK, T., u. G. SPECHT: Mykologisch-bakteriologische Untersuchungen über Pilze und Bakterien als Symbionten in Kerbtieren. Zbl. Bakter. I Orig. **130**, 74—90 (1933). — BERGEY'S: Manual of determinative bacteriology, 6. Aufl. Baltimore 1948. — BORCHERT, A.: Die seuchenhaften Krankheiten der Honigbiene. Berlin 1926. — Untersuchungen an der Acarapis milbe. Z. Parasitenkde **4**, 331—368 (1932). — Über die Acarapis-Milbe, sowie über das Problem ihrer Bekämpfung. Z. Parasitenkde. **12**, 86—93 (1940). — BROWN, F. M.: Descriptions of new bacteria found in insects. Ann. Mus. Novitates **251**, 11 (1927). — BRÜNNICH, K.: Zum Atemmechanismus der Insekten, speziell der Bienen. Arch. Bienenkde **3**, 154—160 (1922). — BUCHNER, P.: Tier und Pflanze in Symbiose, 2. Aufl. Berlin 1930. — Symbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen, 2. Aufl. Berlin 1949. — Endosymbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Basel u. Stuttgart 1953. — CAMERON, G. R.: Inflammation in the caterpillars of Lepidoptera. J. of Path. **38**, 441—466 (1934). Zit. nach STEINHAUS. — CHRISTENSEN, H. R.: Bodenbeschaffenheit und Bakterien. Zbl. Bakter. II Orig. **59**, 266 (1923). — DEEGENER, P.: Das Tracheensystem der Insekten. In SCHROEDERS Handbuch der Entomologie. Jena 1928. — DEN DOOREN DE JONG: Studien über Bakteriologie. Zbl. Bakter. **120**, 1—23. — DORNER, W.: Methoden zur Untersuchung von Bakterienkulturen, (Manual of pure culture study of bacterias.) Hannover 1933. — DREHER, K.: Bau und Entwicklung des Atmungssystems der Honigbiene. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **31**, 608—672 (1936). — FINK, R.: Morphologische und physiologische Untersuchungen an den intrazellulären Symbionten von *Pseudococcus citri*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **41**, 78—146 (1952). — GOTTHEIL, O.: Systematische Untersuchungen über die Bakterien des Ackerbodens. Zbl. Bakter. II **7**, 589—633 (1901). — GRÄBNER, K. E.: Vergleichend morphologische und physiologische Studien an Anobiiden- und Cerambyciden-Symbionten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **42**, 472—528 (1954). — GÜBLER, H. U.: Versuche über die Züchtung intrazellulärer Insektensymbionten. Diss. Zürich 1947. — HUNKELER, M.: Untersuchungen über die Darmbakterienflora der Honigbiene. Diss. Zürich 1925. — JANKE, A.: Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. Dresden u. Leipzig 1946. — KELLER, H.: Bakteriologische Untersuchungen an der Grillendarmflora und intrazellulären Bakterien von *Pelomyxa palustris* GREEF. Diss. Erlangen 1949. — KOCH, A.: Über das Vorkommen von Mitochondrien in Mycetozoen. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **19**, 259—290 (1930). — Über das Verhalten symbiontenfreier Sitodrepa-Larven. Biol. Zbl. **53**, 199—203 (1933). — Fünfzig Jahre Erforschung der

Insektensymbiosen. Naturwiss. **37**, 313—317 (1950). — LEHMANN, K. B., u. R. O., NEUMANN: Bakteriologische Diagnostik. München 1926/27. — LIESKE, R.: Strahlenpilze (Aktinomyceten). Mikrokosmos **39**, 10, 220 (1950). — LINGERKEN, H. v.: Das Tierreich, Bd. IV/3 Insekten. Berlin 1953. — LILLY, J. H.: A preliminary study of the presence of bacteria in the blood of house-fly. Univ. of Wisconsin. B. S. Thesis 1931. Zit. nach STEINHAUS. — MAASSEN, A., u. H. BEHN: Bakteriologische Bodenuntersuchungen. Zbl. Bakter. II Orig. **62**, 180 (1939). — MARCU, O.: Ein Beitrag zur Kenntnis der Tracheen. Zool. Anz. **89**, 186—189 (1930). — MCCRAY, A. H., and G. F. WHITE: The diagnosis of bee diseases by laboratory methods. U. S. Dep. Agric., Bull. No 671, 1918. — METALNIKOV, S.: L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des abeilles galleria mellonella. Monogr. Inst. Pasteur, Paris 1927. — MEYER, R.: Mikrobiologisches Praktikum. Wolfenbüttel u. Hannover 1948. — Die Rolle der Mikroorganismen im Humushaushalt des Bodens. Mikrokosmos **40**, 3, 57 (1950). — MEYN, A.: Bestimmungsschlüssel für die Gattungszugehörigkeit von Bakterien. Stuttgart 1952. — MORGENTHAUER, O.: Ein Jahrzehnt Milbenkrankheit der Honigbiene. Z. angew. Entomol. **19**, H. 3 (1932). — MÜLLER, R.: Medizinische Mikrobiologie. München u. Berlin 1950. — PAILLOT, A.: L'infection chez les insectes. Trévoux 1933. Zit. nach STEINHAUS. — PFEIFFER, H., u. H. J. STAMMER: Pathogenes Leuchten bei Insekten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **20**, 136—171 (1930). — PRELL, H.: Beitrag zur Kenntnis der Milbenseuche der Honigbiene. Arch. Bienenkunde **8**, 241—273 (1927). — RIPPEL-BALDES, A.: Grundriß der Mikrobiologie. Berlin u. Göttingen 1947. — ROKITZKA, A.: Allgemeine Mikrobiologie. München 1949. — SACHS, H. G.: Bienenfeind Nr. 1. Mikrokosmos **42**, 121—124, 248—251 (1953). — SCHANDERL, H.: Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen auf neuer Grundlage. Stuttgart 1947. — Über die Hefesymbiose der Cerambyciden und Aphiden. Verh. deutsch. Zool. **1950**, 252—256. — SCHÖNICHEN, W.: Praktikum der Insektenkunde. Jena 1930. — STAMMER, H. J.: Die Verbreitung der Endosymbiose bei den Insekten. Tijdschr. Entomol. Deel **95**, 23—40 (1952). — STEINHAUS, E. A.: Insect Microbiology. New York 1946. — Principles of Insect Pathology. New York 1949. — TAUBER, O. E., and J. T. GRIFFITHS: Isolation of Staphylococcus albus from hemolymph of the roach Blatta orientalis. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **51**, 45—47 (1942). Zit. nach STEINHAUS. — WALLENFELS, K.: Symbiose und Antibiose. Chemie **1945**, 1—16. — WEBER, H.: Lehrbuch der Entomologie. Jena 1933. — WHITE, G. F.: The bacteria of the apiary with special reference to bee diseases. U. S. Dept. Agric. Bull. v. Entomol. Techn. Bull. **1906**, 14. — WHITE, G. F., and P. BRUCE: The normal bacterial flora of the bee. Aberdeen 1921. — WOHLGEMUTH, O. E.: Die Atemmale der Honigbiene. Diss. Erlangen 1929. — ZANDER, E.: Der Bau der Biene. Stuttgart 1946. — Krankheiten und Schädlinge der erwachsenen Biene. Stuttgart 1947.

Dr. WERNER FEKL, Erlangen, Zoologisches Institut, Universitätsstr. 19

Lebenslauf

Am 1. Juli 1926 wurde ich als Sohn des Kaufmannes Franz Fekl und seiner Ehefrau Amalie geb. Boesner in Nürnberg geboren.

Von 1933 bis 1937 besuchte ich die Volksschule, von der ich dann in die Dürer-Oberrealschule in Nürnberg überwechselte. Ab 1943 wurde meine Schulzeit durch den Wehrdienst unterbrochen. 1945 kam ich verwundet in englische Gefangenschaft, von der ich im April 1946 zurückkehrte. Im gleichen Jahr besuchte ich wieder die Dürer-Oberrealschule und legte dort im Juni 1947 meine Reifeprüfung ab. Bis zum Beginn des Studiums praktizierte ich am bakteriologischen Institut der Stadt Nürnberg.

Im Sommersemester 1948 begann ich das naturwissenschaftliche Studium an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen mit der Fächerverbindung Biologie-Chemie-Geologie-Hygiene. Dort war ich neun Semester als ordentlicher Studierender eingeschrieben. Meine Lehrer in dieser Zeit waren die Herren Professoren: v. Freyberg, Hilsch, Knorr, Neuhaus, Pummerer, Ruhland, Schwemmle und Stammer.

